

DHS リアクターにおける塩分制御による硝化細菌叢変化を利用した亜硝酸化の促進

木更津高専 学生会員 ○西郡 祐輝, 松林 未理 名取 哲平 正会員 大久保 努 上村 繁樹
 東北大院・工 学生会員 竹村 泰幸, 正会員 原田 秀樹
 広島大院・工 学生会員 阿部 憲一, 正会員 大橋 晶良

1. はじめに

省資源・高効率型の脱窒プロセスである嫌気性アンモニア酸化プロセス (Anammox) を適用する際には, その前段処理として, アンモニア塩の酸化を亜硝酸塩で留める, 亜硝酸化プロセスが不可欠である。

我々が行った既往の研究¹⁾では, 下降流懸垂型スポンジ (DHS: Down-flow Hanging Sponge) リアクターを用いて, 安水を模したフェノールおよびアンモニア性窒素 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) を主とし, 高塩分を含む人工排水を処理したところ, 最終処理水において亜硝酸性窒素 ($\text{NO}_2^-\text{-N}$) が優先する現象を確認した。DHS リアクター用いた亜硝酸化に関する既往の研究では, いずれも溶存酸素 (DO) 制御を用いているが^{2,3)}, スポンジ担体が外気に曝されているため, 実規模リアクターで正確に DO の制御を行うことは難しいものと考えられる。その一方, 塩分制御による亜硝酸化プロセスを構築できれば, 塩分含有廃水への適用は容易であり, その他の廃水に対しても塩分調節には安価な薬品である塩化ナトリウムを用いればよい。

そこで, 本研究では, 無曝気の好気処理が可能である DHS リアクターを用いた, より省資源かつ高効率の亜硝酸化プロセスの構築を目的とし, 塩分制御による亜硝酸化の誘導効果の検証を行った。

2. 実験装置および方法

本研究で用いた DHS リアクターは, 三角柱ポリウレタンスポンジ (28.3×14.1×20.0 mm) を高さ 2 m のアクリル板に 5 mm 間隔で 60 個 (スポンジ容量: 240 cm³) 貼り付けたものとし, HRT 2 時間の下で, NH_4Cl : 100 mg-N/L を単一基質とした無機性人工廃水の処理を行った。塩分の亜硝酸化の誘導効果を検証するため, 基質中の塩分を NaCl を用いて Phase1 から Phase7 まで段階的に増加させ, アンモニア酸化性状の観察を行った。水質測定項目は, アンモニア

性窒素 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$), 亜硝酸性窒素 ($\text{NO}_2^-\text{-N}$), 硝酸性窒素 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) とした。また, 塩分変化に伴う硝化細菌叢を調査するため, Phase1, 4, 7 のリアクター上部と下部から採取したスポンジ汚泥 (計 6 サンプル) を対象に, Bacteria の 16SrRNA 遺伝子に基づいたクローン解析を行った (プライマーセットは EUB338f-mix - Univ1500R)。各サンプル共に 96 クローンずつ塩基配列を決定し, BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) を用いて相同性検索を行った。

さらに, 最も亜硝酸化が進行した塩分条件で, HRT のみを 1 時間 (Phase8) および 4 時間 (Phase9) に設定することで, HRT の変動が亜硝酸化に影響を及ぼす影響の検証を行った。

3. 実験結果および考察

3. 1 塩分の増加による検証

リアクターの処理水の窒素の経日変化を図 1 に示す。なお, Phase1 にした日を 0 day とした。Phase3 後半以降, 塩分の増加とともに, 徐々に処理水中の $\text{NO}_2\text{-N}$ の蓄積が進行する一方で, $\text{NO}_3\text{-N}$ は減少する傾向が見られた。特に, Phase7 (25g-Cl/L) において, $\text{NO}_3\text{-N}$ の生成はほぼ完全に阻害され, 全無機性窒素濃度に対する $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度の割合が $87.6 \pm 2.4\%$ と最も高くなった (図 2)。その際, 流入負荷 $1.2 \pm 0.1 \text{ kg } \text{NH}_4\text{-N}/\text{m}^3/\text{d}$ に対して, 亜硝酸生成速度は, $0.9 \pm 0.1 \text{ kg } \text{NO}_2\text{-N}/\text{m}^3/\text{d}$ を記録した。

クローン解析で検出された, アンモニア酸化細菌 (AOB) および亜硝酸酸化細菌 (NOB) に属するクローンの近縁種と相同性および検出頻度を表 1 に示す。AOB および NOB の塩耐性に起因した菌叢遷移が観察された。AOB に関しては, *Nitrosomonas europaea* 系統群に近縁なクローンである NSOM-1 が各塩分において高頻度に検出された。また, 0

キーワード DHS, 亜硝酸化, 塩分, HRT

連絡先 (上村) 〒292-0041 千葉県木更津市清見台東 2-11-1

木更津高専環境都市工学科 TEL 0438-30-4152

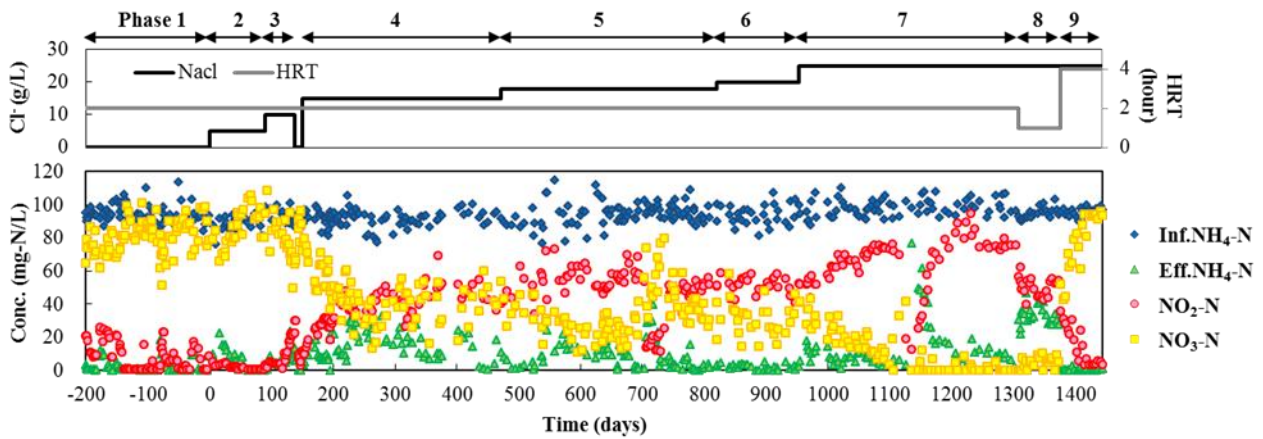


図1 連続実験結果

表1 クローン解析結果

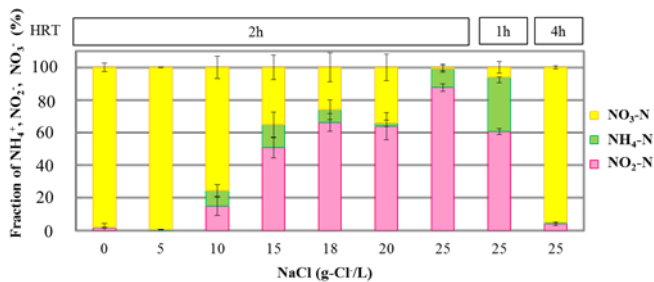


図2 窒素形態の成分比率

g-Cl/L には検出されなかった *Nitrosococcus mobilis* 系統群に近縁である NSOM-3 が 15, 25 g-Cl/L においては検出された. 両系統群ともに塩耐性の高い AOB として知られているため, 高塩分条件下においても NH₄-N 酸化を担っていたと考えられる. NOB に関しては, 0 g-Cl/L において *Nitrospira* に属する NSPI-1 が高頻度に検出されたが, 塩分増加後では検出頻度が著しく低下した. 一方で, 塩分増加後においては *Nitrobacter* に属する NBAC-2 の検出頻度が高くなる傾向が見られ, 塩分によって NOB の優占種が遷移したことが示唆された. 特に, 最も亜硝酸化の進んだ 25 g-Cl/L に着目してみると, 処理水中の NO₃-N 濃度が低いにもかかわらず, リアクターの上部および下部から NBAC-2 のクローンが検出されている. このことから, 本研究で高塩分条件下において亜硝酸化が観察された原因として, 高塩分によって *Nitrobacter* に近縁な NOB が阻害を受け, リアクター内に存在はしていたものの, 亜硝酸酸化活性が低下したことで, 亜硝酸酸化が阻害され, 亜硝酸化が進行されたものと考えられる.

3. 2 HRT の変動による検証

Phase8 において, HRT を 1 時間 ($2.4 \pm 0.1 \text{ kg NH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$) に設定したところ, 残存 NH₄⁺-N の割

Clone	Closest related species (Accession No.)	Identity (%)	Percentage of total clones (%)					
			0 g-Cl/L		15 g-Cl/L		25 g-Cl/L	
			Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
<i>Nitrosomonas europaea</i> -lineage								
NSOM-1	<i>Nitrosomonas</i> sp. ENI-11 (AB079053)	99	34	8	13	10	15	31
NSOM-2	<i>Nitrosomonas</i> sp. R5c47 (AF386749)	99	2	-	1	-	-	-
<i>Nitrosococcus mobilis</i> -lineage								
NSOM-3	<i>Nitrosomonas</i> sp. BF16c52 (AF386747)	99	-	-	4	8	8	2
<i>Nitrosomonas marina</i> -lineage								
NSOM-4	<i>Nitrosomonas</i> sp. R7c140 (AF386753)	99	1	4	-	1	-	-
<i>Nitrospira</i> Sublineage I								
NSPI-1	<i>Nitrospira</i> sp. strain RC25 (Y14639)	99	-	27	1	-	-	-
<i>Nitrospira</i> Sublineage IV								
NSPI-2	<i>Nitrospira marina</i> Nb-295 (X82559)	99	-	-	-	-	-	1
<i>Nitrobacter</i>								
NBAC-1	<i>Nitrobacter</i> sp. AB3 (AM292291)	99	-	2	-	-	-	-
NBAC-2	<i>Nitrobacter winogradskyi</i> R1.30 (AM286389)	99	-	-	2	5	3	7
<i>Nitratireductor</i>								
NRDC-1	<i>Nitratireductor aquibidomus</i> NL21 (AF534573)	99	-	-	3	-	5	4
NRDC-2	<i>Nitratireductor</i> sp. CL-SC22 (HQ176466)	100	-	-	-	1	2	-

合が増加したものの, Phase7 と比べて, 亜硝酸生成速度は $1.3 \text{ kg NO}_2\text{-N/m}^3/\text{d}$ とおよそ 40% 向上した. また, Phase9 (HRT : 4 時間) では, Phase7 と同様の塩分条件にもかかわらず, 時間経過に伴い完全硝化に移行し, 処理水中の NO₂-N および NO₃-N は, それぞれ $4.2 \pm 1.1\%$, $94.6 \pm 1.0\%$ となった. これは, リアクター内における処理水の滞留時間が長くなったことで, 塩分阻害を受けながらも NOB による亜硝酸酸化が進み, 完全硝化に至ったものと考えられる. したがって, Phase7 で観察された亜硝酸化は塩分条件と HRT の相互作用によって生じたものであることが示唆された.

参考文献

- 1) S. Uemura *et al.*, *Bioresource Technology*, Vol. **101**, pp. 5180–5185, 2010.
- 2) H.-P. Chuang *et al.*, *Water Research*, Vol. **41**, pp. 295 – 302, 2007.
- 3) K. Abe *et al.*, *The 4th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition*, No.14-19-5, 2011.